Über das Verhalten der inneren Augenhäute bei einigen Fixierungsmethoden.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

in Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

verfasst und der Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayr. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Alexander P. Prokopenko
aus Charkow (Russland).

ACAD. MED. BAT. BIBL.

Leipzig
Wilhelm Engelmann
1910.

Dekan: Herr Geheimer Medizinalrat Professor Dr. von Bauer.
Referent: Herr Geheimer Hofrat Professor Dr. Eversbusch.

Sonderabdruck aus „v. Graefe's Archiv für Ophthalmologie“
LXXV. Band, 3. Heft.

[Aus der Kgl. Univ.-Augenklinik München. (Vorstand: Prof. Dr. Eversbusch.)]

Über das Verhalten der inneren Augenhäute bei einigen Fixierungsmethoden.

Von

Alexander P. Prokopenko

aus Charkow.

Mit Taf. XV, Fig. 1—4.

Im Jahre 1908 hat auf Veranlassung von Herrn Professor Eversbusch in der Kgl. Univ.-Augenklinik Kikuji Inouye (1) an der Hand langer Reihen von genauen Messungen vergleichende Untersuchungen angestellt, welche die Volumensveränderungen des Kaninchenbulbus bei der Härtung in verschiedenen Härtungsflüssigkeiten und bei der Entwässerung im Alkohol aufklärten.

Als Gegenstück zu Inouyes Arbeit stellte mir Herr Professor Dr. Eversbusch die Aufgabe, die hauptsächlich mikroskopischen Veränderungen der inneren Augenhäute zu studieren, insofern diese ebenfalls als Folge der Fixierungs- und Entwässerungsverfahren auftreten.

Literarisches und Allgemeines.

Schon im Jahre 1893 zeigten Kaiserling und Germer (2) durch Messungen an den mikrophotographischen Negativen, dass keine der vielen untersuchten Konservierungsflüssigkeiten den Erythrocyten der Vertebraten und den Eiern der Kühe gegenüber als indifferent gelten kann (die physiologische Kochsalzlösung in bestimmten Fällen ausgenommen) und dass die Fixierungsmittel gröbere Struktur- und Formveränderung der Zellen hervorrufen.

Die im Jahre 1894 zum Teil und 1899 als abgeschlossenes Werk veröffentlichten Versuche von A. Fischer (3) haben weiter gelehrt, dass man mittels der Erhärtungsflüssigkeiten in Eiweisslösungen Niederschläge erzeugen kann, welche die grösste Ähnlichkeit mit den Gebilden besitzen, die wir in den vorbehandelten Gewebszellen unserer mikroskopischen Präparate beobachten.

1898 erschien Tellyesniczkys Publikation „Über die Fixierungsflüssigkeiten“ (4), namentlich auf dem zoologischen Gebiete; sie empfiehlt

eine Kaliumbichromatessiglösung; und als Parallelarbeit über ein botanisches Objekt folgte im nächsten Jahre v. Wasielewskis (5) Untersuchung, welche einige Essigsäuregemische als die besten bezeichnete.

Eine ganz neue Behandlungsmethode schlug eine Notiz von einem französischen Arzt, Dr. Rubenthaler vor, in welcher es empfohlen wird, das zu fixierende Gewebe zuerst zu anästhesieren (etwa mit Kokain usw.), damit die Einwirkung von Fixierungsmitteln eine nicht zu brüske wird (6).

Gerade umgekehrt, um Eindringen der Flüssigkeit in das Gewebe, speziell in die Retina, zu beschleunigen, ist Stock (7) neuerdings so vorgegangen, dass er die Fixierungsflüssigkeit mittels einer Kanüle in die Mitte des Glaskörpers einspritzte, wodurch die Gestalt besser erhalten und die Amotio retinae vermieden wird.

Einiger anderer kleiner Aufsätze wird an entsprechender Stelle gedacht werden. Die Literatur aber, an welche sich meine Arbeit enge anschliesst, war folgende.

Nach dem Prinzip der Gefrierpunktserniedrigung, welches unter vielem anderen speziell in dem grossen dreibändigen Werk von Hamburger, „Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften“ (8), theoretisch wie praktisch begründet wurde, nahm Helene Stoelzner (9) Bestimmungen der Gefrierpunkte von mehreren Konservierungsflüssigkeiten vor. Weiter bestimmte sie die Volumensveränderungen verschiedener Organe in diesen Flüssigkeiten. Die allgemeinen Schlüsse dieser Arbeit waren folgende: die üblichen Fixierungsmittel verändern das Volumen der Organe und zwar bei verschiedenen Organen verschieden stark. Neben der osmotischen Konzentration der Flüssigkeit spielen dabei anscheinend auch andere unbekannte Faktoren eine Rolle (vgl. Hamburgers Beobachtungen an den Erythrocyten im Formolgemisch nach Melnikow-Raswedenkow, Bd. III, 405). Als eine für Warmblüter isotonische Fixierungsflüssigkeit, welche also das Volumen am wenigsten verändern soll, hat sich die mit Sublimat gesättigte $4^1/_2\,\%$ige Rohrzuckerlösung erwiesen.

Kikuji Inouye kam in der schon erwähnten Arbeit zu Resultaten, welche sich von den vorigen besonders darin unterscheiden, dass die geringste Schrumpfung nach der Behandlung mit ebenfalls mit Sublimat gesättigter, aber nur $1^1/_2\,\%$iger Rohrzuckerlösung erzielt wurde. Die Stoelznersche $4^1/_2\,\%$ige Lösung dagegen verursachte sehr weitgehende Schrumpfungen (bis 9,49 Vol. %).

Auch bei Inouye zeigten die genauen Berechnungen, dass neben den Schrumpfungen und Quellungen, die wir durch den Salz-, Alkohol- oder Zuckergehalt der angewandten Flüssigkeit erklären können, auch Befunde entstehen, welche von unbekannten Faktoren bedingt sein müssen.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich Kaninchenaugen. Es wurden starke Tiere von ungefähr 2050—2090 g Gewicht genommen und mit Chloroform narkotisiert; die Enucleation geschah in agone (wobei ich nach Möglichkeit zuerst die Zentralgefässe blosslegte und mit der Klemmpincette abklemmte, damit etwa die Chorioidea unter der Blutleere nicht ihre Struktur verändere) und lebenswarme Augen wurden direkt in die Konservierungsflüssigkeiten von 13° C. gelegt. Die angewendeten Flüssigkeiten bzw. Methoden sind:

1. Konrad Zenkersche Flüssigkeit,
2. Gesättigte Sublimatlösung in Wasser,
3. „ „ „ $1^1/_2$ %iger Rohrzuckerlösung (nach Inouye),
4. „ „ „ $4^1/_2$ %iger Rohrzuckerlösung (nach Stoelzner),
5. 3 g Sublimat in 100 ccm 50%igem Alkohol,
6. 6 g „ „ 100 ccm 50%igem „
7. Intraokulare Injektionen nach Stock,
8. Heinrich Müllersche Flüssigkeit,
9. Alkohol 70%,
10. „ 100%,
11. 10%ige Formaldehydlösung,
12. Gefriermethoden.

Die Objekte wurden alle in Celloidin eingebettet, die zur Untersuchung gelangten Totalschnitte durch den Bulbus waren 20 μ dick; bei den feineren Schnitten zeigten sich regelmässige artefakte Verunstaltungen. Alle Färbungen wurden mit dem Böhmerschen Hämatoxylin und dem alkoholischen Eosin vorgenommen. Nur bei den Gefrierschnitten, wo es darauf ankam, die Präparate nicht mit dem Alkohol in Berührung kommen zu lassen, kam entweder Alaunkarmin oder 1%iges wässeriges Eosin zur Anwendung; und statt in Kanadabalsam wurden solche Präparate ohne Entwässerung im Eiweiss eingeschlossen. Die Aufhellung war dabei ebenfalls entbehrlich, weil das Eiweiss der Gewebe, von den Reagentien verschont, nicht zur Fällung bzw. Koagulation gekommen war.

Die Mittelmasse für Retina wurden so gewonnen, dass die am meisten typischen Dicken auf der Strecke zwischen der Ora serrata und der Maculagegend einerseits (nasal) und zwischen der Ora und dem Optikuseintritt anderseits ausgesucht wurden; die zu mächtigen Dicken, welche offenbar durch die zu nahe Nachbarschaft der Macula oder des Nerveneintritts bedingt wurden, beachtete ich nicht.

Die Beschreibungen wurden dem Wortlaut meiner Aufgabe entsprechend so eingeteilt, dass ich zunächst die Resultate jeder der untersuchten Methoden für sich bespreche, und zwar zuerst makroskopisch und dann den mikroskopischen Befund.

1. Konr. Zenkersche Flüssigkeit (5 Bulbi).

Nach Wasielewski auch für die Zellenkonservierung ausgezeichnet geeignet, nach Stoelzner $\triangle$ von $-3{,}24°$, an der Rattenleber 17% Schrumpfung, an der Milz 7,97% Schrumpfung, und nach Inouye am Kaninchenauge 6,37% Schrumpfung.

Die frisch eingelegten Bulbi zeigen weder in der Flüssigkeit selbst, noch beim Abspülen im Wasser, noch im Laufe der Entwässerung im Alkohol (von 50%igem in aufsteigender Konzentration) irgendwelche von aussen wahrzunehmenden Formveränderungen, wohl aber merkliche Verkleinerung im skleralen Teile; die Cornea erscheint konisch vorgetrieben.

Die Beseitigung von Sublimat aus den Geweben geschieht schon mit wenig Jodkali, nach Mercier(10) mit 3 Tropfen, im Gegensatz zu dem später zu besprechenden Verhalten anderer sublimathaltiger Flüssigkeiten.

Beim meridionalen Halbieren zeigte sich durchwegs, dass die sphärische Form der Augenhäute erhalten, dagegen die Linse geschrumpft und abgeplattet war; Linsenmasse im Mittel — 10,75 mm äquatorial, 7,5 mm sagittal, während in der H. Müllerschen Flüssigkeit sich 11,0 und 9,1 mm ergaben; an meridionalen Schnitten durch die bernsteingelbe Linse sieht man deutlich als weisslich-gelbe schmale Zone (vorne 2 mm, hinten 1 mm dick) die Corticalis sich von der dunkelbraunen Grundsubstanz absetzen; die letztere ist nicht über 0,5 mm dick, am vorderen Pol überhaupt unmerklich; der grosse lange Kern hebt sich durch seine noch dunklere Farbe von der übrigen Substanz ab; er zeigt aber an beiden äquatorialen Enden weisse Trübungen. Am vorderen wie am hinteren Pol sind die beiden äusseren Schichten durch einen tiefen, bis an den Kern reichenden Riss gespalten. Auch zeigt die im frischen Zustande homogen aussehende Linse einen unerwarteten Reichtum an Farbenschattierungen — ein Ausdruck der durchaus verschiedenen Absorptionsfähigkeit ihrer Bestandteile gegenüber der Flüssigkeit. Die Linsenkapsel ist zart, jedoch porzellanartig undurchsichtig; um den vorderen Pol herum zeigt sie einen Pigmentkranz etwa 5 mm im Durchmesser.

Die inneren Augenhäute haften ungeschrumpft der Sklera an; der Glaskörper liegt als eingesunkene wellige graue Gallertmasse der Pars ciliaris retinae ringsum an.

Mikroskopischer Befund.

Sklera. Nur an dicken Schnitten besteht die Sklera aus dicht zusammengedrängten Bündeln; bei der Schnittdicke von 15 μ wird ihr Gefüge viel loser; den äquatorialen Bündeln entlang und um die meridionalen herum sieht man dann entsprechend verlaufende schmale Spalten, offenbar Artefakte, welche unter anderm in der Gegend des Skleralbordes die Längsschnitte der Gefässe vortäuschen, wohl aber sich von den echten dort befindlichen Gefässen dadurch unterscheiden, dass sie kein Endothel tragen, sondern nur die vereinzelten Bindesubstanzzellen. Der Skleralbord zeigt das typische Verhalten des cornealen Grundgewebes, welches sich in die Substantia propria sclerae nach aussen und in die Tiefe hineindrängt. Die sehr pigmentreiche Lamina fusca sclerae ist in mehrere Lamellen blätterteigartig aufgesplittert, welche bald der Sklera, bald der Chorioidea anhaften, so dass die als natürlich vorauszusetzende Kontinuität des Gewebes mikroskopisch verloren ist.

Die Dicke der Sklera ist am hinteren Pol 0,15 mm, am Äquator 0,25 und am Skleralbord 0,35 mm; es sind aber genaue Messungen kaum durchführbar: erstens ist das Organ peripherwärts stark zerklüftet, zweitens schwankt die Dicke der Sklera durch den Zutritt der Sehnenbündel an den Insertionsstellen der Augenmuskeln.

Cornea. Das Cornealepithel lässt seine Anordnung in etwa 5 Schichten, sowie die Zellgrenzen leidlich erkennen, und zwar um so besser, je weniger konzentrierter Alkohol unmittelbar nach dem Abwaschen zur Verwendung

kam; an einem Bulbus, welcher nach Abwaschen direkt in den 70%igen Alkohol übertragen wurde, fand sich das Epithel als ein gleichmässig 32 bis 35 μ dicker Streifen von der Bowmanschen Membran scharf abgesetzt; an den Schnitten, die von den Augen gemacht wurden, welche in von 50% an aufsteigendem Alkohol entwässert waren, mass das Epithel 40 bis 50 μ Dicke, zeigte viel grössere Dickenschwankungen, dank welchen manchmal das Epithel den Eindruck machte, als hätte es in die Cornea hineingewuchert; die Zellen waren viel plasmareicher, besonders die in den glatten oberen Schichten.

Die vordere Basalmembran — höchstens 6 μ dick — setzt sich scharf vom Epithel ab, geht aber ohne merkliche Grenze in die Grundsubstanz über, von welcher sie auch mancherorten verdrängt, bzw. verdünnt zu sein scheint. Die Bündel der Substantia propria verlaufen zart gewellt, zeigen ausserdem an ihren Seiten feine sägeartig kontinuierliche Einkerbungen; die oberflächlichen Partien sind gelockert, etwa wie die der Sklera; die tieferen bleiben mehr zusammengedrängt. Die Membrana Descemetii ist sehr gut sichtbar und viel stärker (bis 0,01 mm) als die vordere Basalmembran, und zieht ununterbrochen von einem Kammerwinkel bis zum andern. Das Endothel misst 4—5 μ und ist an den rasch entwässerten Augen deutlicher zu sehen.

Die Gesamtdicke der Cornea ist etwa 0,30—0,35 mm.

Die Iris behält ihre Zapfenform; ihre Dicke hart am Pupillarrande ist 35 μ, auf der mittleren Länge — dickster Teil — 0,38 mm; am Irisansatz 0,27 mm. Alle Irisschichten sind gut sichtbar. Die Endothelien der vorderen Oberfläche schienen mir ausgesprochen von Spindelgestalt; sie lagen in dichtem Filzwerk von pigmenthaltigen zartesten Fibrillen und freien Pigmentzellen, welche aus dem nächstfolgenden vorderen Stromablatt stammen. Die prall gebliebenen Gefässe der Gefässschichte reichen hie und da bis an die Oberfläche, wodurch dann die Struktur des ganzen Irisquerschnittes den einheitlichen Charakter der Gefässschichte trägt — ein Netzwerk von homogenen krausen Fibrillen mit nicht sehr spärlich eingestreuten grosskernigen Bindegewebszellen, und dazwischen grosse Gefässe. Unter anderm habe ich an einigen Schnitten eine auffallend geradlinige, senkrecht zum Pupillarrande verlaufende Vene auf $^3/_4$ der gesamten Irislänge gesehen. Der Musculus sphincter schien mir relativ stärker als beim Menschen zu sein. Endlich bildet das Pigmentepithel eine sehr dicke (20 μ) Zellenlage mit zahlreichen lang hakenförmig (kaliphornienartig) umgebogenen Vorsprüngen in die Hinterkammer.

Der Circulus arteriosus ist 0,12 mm im Durchmesser und bei Übung mit dem blossen Auge zu sehen. Seine dicken Wände sind sehr reich an Pigment, wie überhaupt die gesamten Abschnitte der Gefässhäute, die nicht einmal von dunkelgekleideten Tieren genommen worden sind.

Das Epithel der Ciliarfortsätze ist dem der Pars coeca retinae gleich gestaltet; die Gefässe der Ciliarfortsätze sind prall gedehnt.

Chorioidea. Ihre Dicke ist an allen Bulbusabschnitten ziemlich konstant — 0,05 mm an den langsam entwässerten und 0,035 mm an den rasch entwässerten Präparaten; nur hart vor der Ora serrata nehmen die Gefässschichten an Mächtigkeit zu, wodurch das Ganze allmählich zum

Ciliarkörper anschwillt. Die Membrana limitans externa gibt dabei das ciliare palisadenartige Pigmentepithel ab. Anderseits schickt die Suprachorioidea ihre spindeligen Elemente fächerartig zwischen die Bündel des Brückeschen Muskels.

Mikroskopisch betrachtet, liegt die Chorioidea zwar von der Sklera meistenteils abgelöst, aber auf eine sehr geringe Entfernung; auch behält sie sogar an einigen (nicht zahlreichen) Stellen ihren normalen Situs der Sklera und der Retina gegenüber. An solchen Stellen unterscheidet man mit Leichtigkeit die stark pigmenthaltige, aus sehr platten Epithelien zusammengesetzte Membrana limitans externa, welche um 8 μ dick ist und an diesen Präparaten stets der Chorioidea anhaftet; dann folgt, als eine Lage von grossen in die Länge gezogenen Zellen mit grossen langen Kernen, die Lamina elastica chorioideae. Die Choriocapillaris zeigt hie und da rund bzw. oval erhaltene Gefässlumina und reichliches Pigmentgewebe, an vielen Stellen ist sie aber gar nicht zu unterscheiden.

Subkapillare Fibrillen- und Zellenlage erschien eher als zahlreiche Inseln Bindegewebes, zwischen welchen die grossen Gefässe der Gefässschichten an die Kapillaren unmittelbar angrenzen; diese Schichten bilden ein dickes Geflecht von grösseren Gefässen (bis 28—30 μ Querschnitt), unter welchen die Arterien und Venen nach der Beschaffenheit ihrer Wandungen leicht auseinander zu halten sind; das äusserst spärliche Stroma zwischen den Gefässen ist pigmentreich und setzt sich ohne merkliche Grenze in das Stroma der benachbarten Schichten fort. Die Suprachorioidea besteht aus mehreren (4—5) der Länge nach verlaufenden Pigmentlamellen, welche miteinander durch quere kurze Pigmentbalken locker verbunden sind und sehr oft auch an die Sklera herantreten, so dass dieselbe Partie zugleich die Rolle der Lamina fusca und der Suprachorioidea spielt; gegen die Sklera zu schieben sich diese Pigmentlamellen allmählich zwischen die Skleralbündel hinein.

Retina. Unweit von der Ora serrata ist die Retina um 0,09 mm dick, sonst ist ihre Dicke sehr regelmässig 0,13 mm; für die Erhaltung der Retina erwies es sich als belanglos, mit welchem der oben angegebenen Alkohole die Entwässerung begonnen wurde.

Die Retina lässt in ihrer differentialen Schichten-Färbbarkeit nichts zu wünschen übrig. Sie ist aber konstant von der Chorioidea abgelöst, doch nicht weit und auf dem Querschnitt stets ihre Kreisform behaltend. Lamina basalis, oft mitsamt dem Pigmentepithel, bleibt dabei, wie schon bemerkt, fast durchwegs an der Chorioidea haften. An den Stäbchenzapfen (30 μ dicke Schicht) unterscheiden sich die mit Eosin intensiver färbbaren Innenglieder von den blasseren Aussengliedern; einige verlagerte Zapfenkerne kommen auswärts und oberhalb der Membrana limitans externa zu liegen; diese Membran ist bald bloss der Zellgrenze ähnlich, bald einem wirklich selbständigen Gebilde. Die äussere Körnerschicht (20—23 μ) zeichnet sich durch die dicht gedrängten, mehr vertikal-ovalen Kerne aus, indes die Faserschicht nur sehr spärliche horizontal-ovale Kerne zwischen wirbelnd unregelmässig verlaufenden Fasern und die mehr gestreckten „Füsse“ der Stäbchen enthält. Die nächstfolgende äussere retikuläre Schicht ist kaum angedeutet. Jedenfalls ist sie durch zahlreiche vereinzelte Zellen

der inneren Körnerschicht eingenommen; eine Grenze zwischen beiden ist nicht zu ziehen. Die Körnerschicht ist 15 μ dick und weist wie grössere Nervenzellen, so auch kleine konische Zellen bindegewebiger Natur auf. In der inneren retikulären Schicht sieht man deutlich ihre feinkörnige Struktur durch zahlreiche Radiärfasern durchsetzt. Ganglienzellenschicht (12 μ, ausnahmsweise bis 20 μ) zeigt in bezug auf Zahl der Zellen grosse Schwankungen; bald war auf einer Strecke von 100 μ (und lückenlos) keine einzige zu sehen, bald lagen mehrere typische Zellen nebeneinander, was den Eindruck der inselartigen Anordnung machte. Die Nervenfaserschicht ist in den von der Nerveneintrittsstelle entfernteren Partien sehr zart und dünn; ihre äussere Hälfte ist glashell durchsichtig — Membrana limitans interna — und zeigt ausnahmsweise verirrte Ganglienzellen. Die grossen an ihrer Basis miteinander in Berührung stehenden Füsse der Radiärfasern verleihen den beiden letzten Schichten — die Membrana limitans ausgenommen — einen kompakteren Charakter, als der der inneren retikulären Schicht.

Von der Zonula Zinnii habe ich leider nur ein krauses Büschel von zarten durchsichtigen Fasern gesehen, unter welchen die einen von der retinalen Seite des Ciliarkörpers kamen, die andern aber an seinem vorderen Teil zwischen den Ciliarfortsätzen zu entspringen schienen.

Der allgemeine Eindruck von der Konr. Zenkerschen Flüssigkeit ist zweifellos ein guter. Dass man aber für unsere Zwecke viel elegantere Resultate erzielen kann, überzeugte ich mich bei einigen unten zu beschreibenden Methoden.

2. Gesättigte Sublimatlösung in Wasser (2 Bulbi).

(Stoelzner $\triangle$ — 0,24°; Rattenleber 1,5% Quellung; Milz 8,99% Quellung; Inouye am Kaninchenauge 3,85% Schrumpfung.)

Die Wirkung des Sublimats besteht bekanntlich in der Koagulation des Eiweisses, und zwar fällt die Koagulation an verschiedenen Eiweissarten in verschiedenen Graden und Zeiten aus.

Die Bulbi bleiben in der Flüssigkeit äusserlich unverändert, desgleichen in 50%, 60% und 70% Alkohol; aber von der Konzentration 80% an fängt die Sklera an, sich in der Gegend um den Nerveneintritt etwas einzuziehen. Cornea ist infolge von Verkleinerung der Sklera etwas konisch vorgetrieben; sonst zeigt sie eine schöne gleichmässige Wölbung.

Am Querschnitt liegt die Chorioidea der Sklera, die Retina der Chorioidea an. Die Retina ist dabei verhältnismässig auffallend grob und total undurchsichtig weiss, erscheint sehr dick, zeigt grosse Brüchigkeit —, ist wie atheromatös geworden. Über dem Optikuseintritt wird sie durch den zusammengeballten voluminösen Glaskörperrest verdeckt; ebenfalls voluminöse Glaskörperreste liegen als geronnene lose Flocken vorne auf dem Boden der Hinterkammer. Die Iris ragt in die Vorderkammer unter dem Winkel von 45° zur Limbusebene. Die Linse ist sehr gross, misst 11,5 mm äquatorial, 7,1 sagittal; die Kapsel zeigt am vorderen Pol den Pigmentkranz, ist in toto leicht abziehbar; die Corticalis ganz schmal, weiss, undurchsichtig; die Grundsubstanz ist hellgelb durchscheinend, vorne dicker als

hinten und setzt sich scharf von dem sehr grossen (7,0 äquat., 5,0 mm sagitt.) Kern, dessen Quellung die Hauptursache der Linsenvergrösserung ist. Am Äquator verläuft ein tiefer, die Kapsel, Corticalis und Grundsubstanz durchsetzender Riss.

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera verhält sich, wie in der Konr. Zenkerschen Flüssigkeit. Ihre Dicke beträgt 0,13 mm am Hinterpol; am Äquator schwankt sie sehr — von 0,14 mm bis 0,2 mm, offenbar abhängig von den Sehnenmassen an den Muskelinsertionsstellen, welche in die Sklera eindringen, wobei die einzelnen Sehnenbündel sich zwischen die Skleralbündel, ihnen parallel, einlagern.

Cornea. Das Epithel ist gut konserviert, 36 μ dick; die vordere Basalmembran 6 μ dick. Die Propriabündel der oberflächlichen Schichten sind hochgradig geschlängelt, wodurch grössere interfascikuläre Lücken, auch grosse grobe Spalten entstehen; die Bündel der tieferen Schichten sind zwar ebenso spiralisch gewunden, liegen aber dicht nebeneinander; sie tragen etwas mehr Zellen als die oberen — vielleicht nur, weil sie sich eben etwas mehr zusammengezogen haben; die Membrana Descemetii (12 μ dick) wird im Kammerwinkel deutlich dicker (bis 16—20 μ). Gesamtdicke der Cornea 0,25 mm.

Die Iris ist etwas geschrumpft; ihre Dicke beträgt 0,06 mm am Pupillarrande, 0,33 mm in der mittleren Länge und 0,30 mm am Ansatz. Circulus arteriosus misst bis 0,08 mm im Durchmesser. Die Ciliarfortsätze machen sichtlich geschrumpften Eindruck.

Die Dicke der Chorioidea ist 0,4—0,5 mm — je nachdem ein grösseres oder kleineres Gefäss ihren Querschnitt ausfüllt; ciliarwärts verdickt sie sich typischerweise. Sie ist von der Sklera im ganzen Umfange weit abgelöst und mehrmals grob geknickt. Die Choriocapillaris und die Elastica sind noch mehr zusammengefallen als an den Konr. Zenkerpräparaten. Das Lumen der Gefässschicht gut erhalten. Die Suprachorioidea typisch in einige parallele Lamellen aufgelöst.

Die Retina nimmt an der, wenn auch kleinen allgemeinen Schrumpfung nicht teil; ihre durchschnittliche Dicke ist 0,15 m, ihre Schichten verdicken und verdünnen sich um kleine Werte, sind aber durchaus nicht zusammengedrängt; Dicke der wichtigsten ist: Stäbchen-Zapfen 32—40 μ; äussere Körner 28 μ, innere Körner konstant 15 μ, Ganglienzellenschicht 12—20 μ. Die Färbbarkeit mit Hämatoxylin-Eosin ist ausgezeichnet.

Im allgemeinen empfiehlt es sich aber nicht, zu dieser Methode zu greifen — mit Ausnahme der Retina sind die Resultate wenig befriedigend.

3. Gesättigte Sublimatlösung in $1^1/_2$ %iger wässriger Rohrzuckerlösung (3 Bulbi).

(Inouyes bestes Ergebnis — 0,03 % Quellung.)

Im Laufe von allen Konservierungsmanipulationnen lassen die Bulbi keine noch so geringe äussere Gestaltsveränderung bemerken, nur dass die Cornea etwas konisch vorgetrieben und, wie unvermeidlich, opak geworden ist.

Heim Halbieren zeigte es sich aber, dass die Retina aufs äusserste gelitten hatte; sie blieb überhaupt nur an der Optikuseintrittsstelle und an der Ora serrata befestigt, sonst war sie ganz von der Augenwandung abgelöst; auch erschien sie weiss, dicker als normal und war sehr brüchig. Der Glaskörper breitete sich von dem ganzen Umfange der tellerförmigen Grube her, als ein Conus nach dem Hintergrund spitz auslaufend. Die Chorioidea bot tadelloses Aussehen; ebenso behielt die Iris ihre Form und den Winkel von 35^0—40^0 zur Limbusebene. Linsenmasse: 10,1 mm äquat., 7,3 sagitt. Die Linsenkapsel war nicht abzuziehen, obgleich deutlich zu unterscheiden. Die opake Corticalis ging ohne merkliche Grenze in die gleichgetrübte Grundsubstanz. Der Kern war durchsichtig und gross. Eine Linse trug einen langen sagittalen Spalt, welcher die ganze Linsenmasse vom hinteren Pol bis zum vorderen durchsetzte, ohne dabei jedoch die Kapsel zerrissen zu haben.

Bei der Alkohol-Äther-Vorbehandlung für das Celloidin schrumpften die skleralen Teile regelmässig, aber nicht stark zusammen.

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera ist gar nicht aufgefasert; ihre Lamellen lassen zwischen sich keine Spalten bemerken; ihre Gesamtdicke bewegt sich zwischen 0,38 bis 0,45 mm; an der Ora serrata erreicht sie sogar 0,50 mm.

Von der Sklera setzt sich scharf die viel dünnere Cornea ab; am Skleralborde misst sie 0,25 mm und dann verdickt sie sich allmählich gegen das Zentrum bis zu 0,30 mm. Die Dicke des ziemlich geschrumpft verlaufenden Cornealepithels schwankte ebenfalls — 24—28 bis vereinzelt 38 μ; die oberen Schichten sind stark abgeplattet, was besonders aus dem Vergleich mit den unten zu beschreibenden Heinr. Müllerpräparaten hervorgeht. Die Bowmansche Membran ist von der Substantia propria färberisch nicht differenziert, 5—6 μ dick und viel schlechter zu sehen als an den Sublimatwasserpräparaten. Die Membrana Descemetii nicht über 6 μ, das Endothel 4 μ dick. Sehr gut ist die fibrilläre Struktur der Substantia propria zu sehen.

Die Iris besitzt ihre typische Form des am Ende zugespitzten und gegen die Cornea gerichteten Zapfens; ihre Masse: am Ansatz 0,13—0,17 mm, Mitte 0,35 mm, Pupillarrand 0,07 mm. Im Gegensatz zum Verhalten der Chorioidea kann man an ihr das Endothel und die beiden Stromablätter gut unterscheiden. Die Chorioidea (wie die Lamina fusca sclerae) liegen der Sklera auch mikroskopisch ununterbrochen und fest an, meistenteils ohne ihre Kontinuität auch durch kleinsten Spalt aufzugeben. Die Chorioidea zeigt stellenweise pralle Gefässe und ist dort 0,04—0,05 mm dick, sonst bis 0,02 mm verjüngt; von der feineren Schichtung sieht man fast gar nichts.

Die Retina ist von der Chorioidea derart abgelöst, dass sie sich als eine Chorda mehr weniger geradlinig von der Ora serrata nach dem Optikuseintritt zieht. Ihre Konservierung ist bei weitem nicht so gut, als an den Sublimatwasserschnitten. Ihre Dickenmasse bewegen sich zwischen 0,10 bis 0,14 mm; die Dicke der verschiedenen leidlich differenzierbaren Schichten ist: Stäbchen-Zapfen 28—40 μ, äussere Körner 20—24 μ, innere Körner 13 μ und Ganglien — 15 μ.

Es zeigt sich, dass der Zusatz von Rohrzucker in solcher Konzentration den konvervierenden Wert des Sublimats höchstens nur nach einer Richtung hin erhöht, nämlich in bezug auf die Darstellbarkeit der Cornealfibrillen.

4. Gesättigte Sublimatlösung in $4^1/_2$ %iger wässriger Rohrzuckerlösung (4 Bulbi).

(Stoelzner — 0,57°; Rattenleber 0,8 % Quellung; Gehirn 0,6 % Quellung; Inouye — Kaninchenauge 9,49 % Schrumpfung.)

Die Bulbi wurden in der von Stoelzner als die beste befundenen Flüssigkeit 24 Stunden gelassen; während dieser Zeit wurde der Zuckerprozentgehalt polarimetrisch nochmals kontrolliert, weil der Zuckergehalt im gegebenen Falle nach Stoelzner prinzipiell wichtig war, indem er den nötigen osmotischen Druck der Flüssigkeit bestimmte. Weder in der Lösung selbst, noch im Alkohol mit aufsteigendem C_2H_5OH-Gehalt zeigten die Augen irgendwelche äusserliche Gestaltsveränderungen; im entwässerten Alkohol-Äther dagegen stellten sich in kurzer Zeit andeutungsweise Einziehungen am hinteren Pol, welche aber sehr klein verblieben und sich später im verdünnten Celloidin wieder ziemlich ausgeglichen haben. An einem Bulbus fehlte jede, es sei auch noch so vorübergehende Gestaltsveränderung. Besonders schön lebenstreu scheint die Wölbung der weisslich-undurchscheinenden Cornea erhalten zu sein, an welcher jede konische Vortreibung ausbleibt.

Die Retina und Chorioidea folgen im ganzen der Sklera; nur unmittelbar am Schnittrande löste sich ein paarmal die ganz zarte Netzhaut in kleinen seichten Falten von der Chorioidea ab — wohl ein gröberes Kunstprodukt. Die Netzhaut ist nicht gequellt, bleibt durchscheinend und nicht brüchig. Das Corpus vitreum liegt stärkst geschrumpft als dünne gallertige Scheibe quer in der Hinterkammer, die Lage der tellerförmigen Grube andeutend.

Linsenmasse: äquat. 11,2 mm, sagitt. 7,7 mm. Die Linsenkapsel ist nicht zu unterscheiden. Die Corticalis ist kreidig weiss und undurchsichtig, brüchig und gleichmässig 1 mm dick; die Grundfasern dagegen sind bernsteingelb-durchscheinend, beim Schneiden zäh resistent; sie sind von dem gleichgestalteten Kern durch eine wiederum weisse, undurchsichtige Schicht getrennt.

Mikroskopischer Befund.

Sklera. An keinen andern Schnitten war eleganteres Sichabgeben der meridionalen Bündel von den äquatorialen zu beobachten. Die Dicke der Sklera mass 0,3 mm; an den Muskelansatzstellen bis 0,5 mm; die Sklera war dabei fast durchgehends unaufgefasert. Die Lamina fusca liegt zwar hie und da in ihre Längsschichten gespalten (was bei den andern Methoden die Regel ist), meistenteils behalten aber die Sklera, Chorioidea und Retina aufs genaueste ihren unmittelbaren Kontakt.

Die Cornea ist im Mittel 0,28 mm dick; gegen den Skleralbord, wo die Bündel ihren ziemlich geradlinigen Verlauf auf einen mehr welligen wechseln, — 0,30—0,33 mm. Das Epithel misst 40 μ, zeigt kleine Ver-

dickungen bis 44 μ und Verschmälerungen bis 28 μ; seine oberen Schichten sind stark abgeplattet und messen alle zusammen weniger (4 μ) als die untere Palisadenlage allein (6 μ); indes war an Heinr. Müller z. B. die letztere 0,16 μ dick und die oberen Schichten 24 μ — welches Verhältnis wohl als ein mehr der Natur entsprechendes anzusehen ist. Die Bowmansche Membran ist undifferenzierbar; die Membrana Descemetii dagegen (bis 12—14, ja 16 μ dick) nicht nur charakteristisch hyalin aussehend, sondern auch samt ihrem Endothel (4 μ) auf weitere Strecken von der Cornea total abgelöst.

Die Iris ist stromareich und nicht geschrumpft; am Pupillarrande ist sie 0,076 mm dick; die dickste Stelle unweit von der Mitte — 0,37 mm; der Irisansatz 0,3 mm. Struktur gut sichtbar.

Die Chorioidea ist, das 4 μ dicke Pigmentepithel hinzugerechnet, 0,06 bis 0,07 mm dick; ihre grossen Gefässlumina messen bis 0,04 mm; Einzelheiten, wie Kapillaren sind gut dargestellt. Die Chorioidea und die Retina sind, wie bemerkt, voneinander durch keinen verunstaltenden Spalt abgerissen; und dieses ist ein seltenes Verhalten nach all den mikroskopisch-technischen Manipulationen.

Die Retina zeigt die schönsten Resultate dieser Methode. In allen andern Flüssigkeiten war die Retina abgelöst, also abgeknickt und zerrissen, oder sie folgte der grob geschrumpften Kammerwand. Hier liegt sie der völlig unversehrten Wand an; aber auch strukturell ist sie ausgezeichnet dargestellt — die Grössenunterschiede zwischen den inneren und äusseren Körnern, Deutlichkeit der Absonderung der Stäbchen und Zapfen voneinander, feinerer Bau der retikulären Schichten, der Radiärfasern — alles ist sehr gut sichtbar. Die Gesamtdicke der Retina beträgt 0,10 — 0,15 mm, je nach der Entfernung von dem Optikuseintritt; Stäbchen und Zapfen — 20—32 μ; äussere Körner 18—24 μ; innere Körner 14—16 μ; Ganglienzellenschicht überall 8 μ.

Bei der Anwendung dieser vorzüglichen Flüssigkeit, die nur in bezug auf die Darstellbarkeit der Chorioidea der Müllerschen nachsteht, sonst aber, was das Gesamtbild anbelangt, alle andern, auch die Konrad Zenkersche, übertrifft, — muss man bei der Alkoholhärtung mit dem Jodkalizusatz nicht sparen, und zwar nicht, wie üblich, bis cognakgelbe Färbung des Alkohols zusetzen, sondern viel mehr; nur dann bekommt man beschlagfreie Bilder. Sehr kurz und überall da sehr praktisch, wo die Untersuchung rasch vorgenommen werden muss, ist die Methode von Pirone (11), welcher nicht die ganzen Objekte, sondern erst die mikroskopischen Schnitte selbst mit Jodkali zu bearbeiten empfohlen hat.

5. 3 g Sublimat und 0,5 g Kochsalz pro 100 ccm Alkohol 50% (2 Bulbi).

(Inouye am Kaninchenauge 9,96% Schrumpfung.)

Zweck der Anwendung von allen alkoholischen Sublimatlösungen beim Fixieren ist bekanntlich der, dass man einerseits die Entstehung

der Quecksilberalbuminate und dadurch die Fixation der Eiweissgebilde herbeiführt und anderseits den Alkohol zugleich als Entwässerungsmittel wirken lässt. 3%iger $HgCl_2$-Gehalt erweist sich dabei als unzureichend, um der schrumpfenden Wirkung des Alkohols gegenüber genügend rasch und ausgiebig die Fällung der Albuminate zu bewerkstelligen; die Bulbi zeigen schon in 70%igem Alkohol Schrumpfungen, welche übrigens nicht sehr bedeutend sind und sich im Laufe der weiteren Behandlung nicht vergrössern.

An den Bulbusquerschnitten sieht man makroskopisch, dass die inneren Augenhäute ihre gegenseitige Lage nicht im mindesten verändert haben. Die Retina ist wenig durchsichtig; der Glaskörper, verhältnismässig sehr wenig geschrumpft, stellt einen Conus dar, dessen Basis die tellerförmige Grube und Spitze die Eintrittsstelle des Optikus ist.

Linsenmasse sind: äquat. 11,5, sagitt. 7,1 mm. Die Linsenkapsel ist von der Corticalis nicht zu unterscheiden; die Corticalis ist weiss, kreidigundurchscheinend und erreicht vorne 2 mm, hinten 1 mm; sie zeigt am vorderen Pol mehr weniger tiefe Risse; am Äquator, unweit von der Oberfläche verläuft ein dem Rande konzentrischer Spalt, welcher bedeutet, dass die inneren Linsenteile eine energischere Schrumpfung erlitten, als ihre Oberfläche. Grund- und Kernfasern sind bernsteingelb durchscheinend und reihen sich unmittelbar aneinander an, können aber daran unterschieden werden, dass der eigentliche Kern etwas heller ist. Die Grundschicht ist dabei wie die Corticalis vorn viel dicker (3 mm) als hinten (1 mm).

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera ist ziemlich unaufgefasert, dafür sichtlich geschrumpft; ihre Dicke — 0,25 am Skleralborde — übertrifft sonst nicht 0,16 mm.

Die Dicke der Cornea schwankt zwischen 0,35 — 0,30 — 0,25 mm; lamellöse Struktur der Substantia propia ist deutlich; die Dicke des Epithels bewegt sich zwischen 44 und 30 μ; seine oberen Zellreihen sind nicht sehr abgeplattet und schon die Elemente der zweiten Reihe besitzen eine stark abgerundete Form; ganz auffallend erscheint hier die morphologische Verschiedenheit dieser regellos zusammengedrängten oberen Zellreihen und der tiefen streng geordneten Palisadenschicht. An einzelnen Stellen war das Epithel samt der Basalmembran (6 μ dick) und einigen cornealen Bündeln von der jeweils aufgelockerten Cornea abgelöst. Die Membrana Descemetii (6—8 μ dick) und das Endothel (nicht über 4 μ) waren beide an den dickeren Schnitten besser sichtbar. Die Iris ist ebenfalls zusammengezogen und misst in der Mitte 0,33 mm (Heinr. Müller — 0,41, ja bis 0,50 mm), am Ansatz 0,15.

Die Chorioidea ist manchmal auf 16—20 μ reduziert; ihre mächtigsten Stellen sind nur 28 μ dick (Heinr. Müller — 60—80 μ).

Die Retina ist derart geschrumpft, dass sie nur 0,08—0,10 mm beträgt, indem bei andern Methoden sie entsprechend 0,1—0,14 mm mass; nur näher am hinteren Pol wird sie dicker. Die Stäbchen-Zapfen schwanken

zwischen 14 μ und 24 μ (Subl.-Wasser: 32 μ bis 40 μ), die äusseren Körner 18—20 μ, die inneren 10—12 μ, die Ganglien 8 μ.

Alle die Resultate bieten so wenig brauchbares, dass diese Methode, welche dank den Jodkalizusätzen doch eine langwierige ist, im allgemeinen kaum empfehlenswert erscheint.

6. 6 g Sublimat und 0,5 g Kochsalz pro 100 ccm Alkohol 50% (2 Bulbi).

(Inouye — 12,64% Schrumpfung.)

Die sphärische Gestalt der Augen verändert sich in dieser Flüssigkeit nicht; besonders deutlich sieht man, dass die Wölbung der Cornea, mit den andern Flüssigkeiten verglichen, sich hier am wenigsten geändert hat; aber total undurchsichtig ist die Cornea auch hier geworden.

Die Chorioidea liegt, wie gewöhnlich, der Sklera an, welche in diesem Falle von keiner Seite verunstaltet ist. Die Retina weist ein dem Leben viel weniger entsprechendes Verhalten auf: sie ist deutlich gequellt, ungemein brüchig, milchig-weiss und völlig undurchsichtig und zeigt bald grobe Ablösungen (sogar auf die ganze Strecke von der Ora serrata bis zur Papille sich erstreckend) oder unregelmässige, mir in den andern Flüssigkeiten nicht begegnete, äquatorial verlaufende Risse. Die Regenbogenhaut lässt an sich nichts besonderes gewahren.

Linsenmasse: äquat. 11,1, sagitt. 7,4 mm. An Querschnitten sieht man die starke, vorne dickere (bis 3 mm), hinten schmälere (bis 1 mm) Corticalis; die Grund- und Kernfasern fliessen undifferenzierbar zusammen.

Das Corpus vitreum erscheint zerklüftet, in einzelne Klumpen zusammengeballt und liegt in unregelmässigen Stücken bald an der Ora serrata, bald, der Schwere folgend, am Boden der Augenkammer.

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera ist gut konserviert, 0,1—0,12 mm dick; besonders schön, aber wohl zufällig, waren an mehreren Schnitten die episkleralen Gefässe zu sehen.

Die Cornea ist nur stellenweise gut fixiert und an mehreren Stellen stark aufgefasert; ihre Dicke beträgt 0,12 mm, gegen den Skleralbord 0,09 mm. Das Epithel misst 48—52 μ; die vordere Basalmembran ist kaum zu erkennen. Die Membrana Descemetii ist auffallend schmal (nur 4 μ); das Endothel normalerweise 3 μ dick.

Die Iris ist stark abgeplattet, in der Mitte etwa nur 0,20 mm dick; am typischen, eng auslaufenden Pupillarrande 0,04 mm.

Die Chorioidea liegt fast durchgehends der Sklera an, ohne den kleinsten Spalt zwischen beiden zu lassen; sie zeigt sehr deutlich ihre feinere Struktur und ist 0,04—0,048 mm dick.

Die Retina, trotz der weitgehenden Ablösung und zahlreichen Rissen, ist in ihren Strukturverhältnissen wenig alteriert; auch die feinsten Elemente der einzelnen Schichten sind gut sichtbar. Ihre Gesamtdicke ist unweit von der Ora serrata 0,08, sonst in den meisten Partien 0,11—0,115 mm; die

Stäbchen-Zapfen 20—24—28 μ; die äusseren Körner 24—30 μ, die inneren Körner 15—18 μ; die Ganglienzellenschicht 8—12 μ.

Es ist ersichtlich, dass diese Flüssigkeit, wenn sie auch von keinen besonderen Fehlern belastet ist, doch nicht im stande ist das Beste zu liefern, was mit den andern Methoden erreichbar ist.

7. Stocksche(7) Methode (2 u. 2 Bulbi).

Die Eigentümlichkeit dieser Methode besteht darin, dass man mit einer dünnen, scharfen Kanüle mit der Spritze soviel von der Fixationsflüssigkeit in die Mitte des Glaskörpers einspritzt, dass das Auge wieder eine annähernd normale Tension hat. Auf diese Weise kann die Retina schon frühzeitig gehärtet werden, weil die Flüssigkeit nun nicht mehr braucht, erst durch die Sklera hindurch hereinzudiffundieren, was stets nur langsam geschieht. Die Retina bietet deswegen bei solcher Behandlung viel klarere Zeichnung und die Amotio retinae fällt fort.

Es wurden zwei Flüssigkeiten genommen: die Konr. Zenkersche, auf welche sich hauptsächlich die Bemerkungen von Stock beziehen, und die gesättigte Sublimatlösung in $1^1/_2\,\%$iger Rohrzuckerlösung, welche bei gewöhnlichem Verfahren mässige Schrumpfungen des Bulbus und Amotiones retinae zeigte und also geeignet war, die etwaigen Verbesserungen zu Augen zu führen. Zur Untersuchung gelangen je zwei Bulbi.

Das äussere Verhalten der Augen und der Befund beim Halbieren stimmen mit dem an seiner Stelle über die beiden Flüssigkeiten Gesagten im meisten überein. Die Stellen, wo die Kanüle die Wand durchstach, sind nicht zu sehen; die Retina ist in der Sublimatlösung typisch brüchig und grob abgelöst, im Konr. Zenker glatt anliegend; die Zeichnung der Linsen ist bis ins Detail dieselbe; aber im Konr. Zenker reisst bei Herausnahme der Linse die vordere Kapselhälfte von der Linse ab und bleibt an der Zonula Zinnii vor der Pupille und Iris hängen; die hintere Kapselhälfte haftet an der Linse. Die Linsenmasse: im Konr. Zenker 10,2 mm und 7,6 mm — etwas weniger, und in der Sublimatlösung 10,5 mm und 7,3 mm — etwas mehr als an seiner Stelle gefunden wurden. Der Glaskörper, der Behandlung entsprechend, bildet keine Klumpen, sondern findet sich überall als ein ziemlich gleichmässig dicker gallertiger Beschlag an der Kammerwandung angepresst.

Mikroskopischer Befund.

Ich unterlasse es, hier den Befund genau darzulegen, weil er kaum von dem schon einmal beschriebenen verschieden ist. Nur das muss bemerkt werden, dass die Retina in der Tat an diesen Präparaten an etwas längeren Strecken der Chorioidea anlag; die Chorioidea dagegen scheint viel weitgehender von der Sklera abgelöst zu sein, was übrigens die Eleganz

der Retinadarstellung nicht stört. Die Färbbarkeit mit denselben Farben in derselben Zeit und somit die Strukturzeichnungen der Retina sind zweifellos besser, als an den gewöhnlichen Konr. Zenkerschnitten, ja vielleicht besser als die schönsten sonstigen Retinapräparate sie zeigten.

Die Sklera ist nicht besser, als gewöhnlich; auch die Dickewerte sind dieselben — 0,08—0,13—0,25 mm.

Die Cornea zeigt einige Abweichungen. Sie ist zwar auch 0,30 bis 0,34 mm (sonst in Konr. Zenker 0,30—0,35 mm) dick, aber die übrigen Werte sind: das Epithel — 32 μ (statt 40—50 μ); die Bowmansche Membran 4—8 μ (statt 6 μ), und besser als ohne Injektion; die Membrana Descemetii — 8—10 μ; das Endothel nur 2—3 μ (statt 5 μ) — wohl infolge von rascherer Einwirkung der Flüssigkeit von der Vorderkammer aus.

Die Dicke der Iris beträgt: 0,05 mm am Pupillarrande, 0,45 in der Mitte und 0,25 im Kammerwinkel.

Die Chorioidea ist meistenteils 36—45 μ dick und dann sind ihre Gefässlumina bis 16 μ weit; sonst verdickt sie sich manchmal bis zu 80 μ.

Auch die Retina bewegt sich meistens in denselben Massen — 0,12 bis 0,13 mm Gesamtdicke; die Stäbchenzapfen 30 μ; die äusseren Körner, welche auch sonst der Konservierung gegenüber die empfindlichste Retinaschicht sind, ergeben 26—30 μ (statt 20 μ); die inneren Körner und die Ganglienzellenschicht — typisch 15 μ und 16 μ.

In der Sublimat-Rohrzuckerlösung fiel die Retina auf jeden Fall nicht besser als beim gewöhnlichen Verfahren. Die Dicke der Sklera betrug ebenfalls ungefähr 0,3 mm; die Cornea war in ihren einzelnen Teilen innerhalb der Fehlergrenzen gequollen, indem ihre Gesamtdicke 0,25—0,32 mm dieselbe war. Die weiteren Masse sind in der Tabelle am Schluss zu finden. Nur von der Retina ist ihr zweifellos abweichendes Verhalten hervorzuheben, und zwar nicht in der Gesamtdicke (ebenfalls 0,1—0,14 mm), sondern in einzelnen Schichten: die Stäbchenzapfen — 20—28 μ (statt 28—40 μ); die äusseren Körner 24—28 μ (statt 20—24 μ), die inneren Körner 8 bis 10 μ (statt 13 μ) und die Ganglienzellen — 12 μ statt 15 μ.

Es bestehen also Vorteile dieser Methode hauptsächlich für die Färbbarkeit und viel weniger für die Formkonservierung der Retina, wie schon wegen der vorgenommenen Läsion von vornherein zu erwarten war, — und nur bei der Anwendung der Konr. Zenkerschen Flüssigkeit, nicht der Sublimatlösung.

8. Heinrich Müllersche Flüssigkeit (4 Bulbi).

Stoelzner: $\triangle$ — 0,84°; Rattenleber 10% Schrumpfung; Gehirn 9,41% Quellung. 1887 kam Sehrwald (12) auf Grund von Messungen der Spitzenfortsätze der Pyramidenzellen zum Schlusse, dass die Heinr. Müllersche Flüssigkeit die Gestalt auch der feineren Zellteile nicht alteriert.

In der Flüssigkeit behalten die Bulbi ihre sphärische Form und zeigen keine ohne weiteres wahrzunehmenden Volumensveränderungen.

Beim Halbieren sieht man das Bulbusinnere bräunlich verfärbt; die Linse erscheint als sehr dunkle schokoladefarbene, schwachdurchscheinende Scheibe in der schmutzigweissen zarten Kapsel; die Kapsel ist leicht abziehbar. Die Linsensubstanz lässt keine Schichtungen erkennen; die Linse ist nicht geschrumpft, eher im sagittalen Durchmesser gequollen. Mittelmasse sind: 11,0 mm äquat., 9,1 mm sagitt. Linsenrisse fehlen vollständig.

Die Cornea ist sehr dick, mürbe, undurchsichtig; die Sklera, wie gesagt, schön abgerundet; die Chorioidea liegt der Sklera an; dagegen löst sich die Retina, welche schmutziggrau verfärbt und fast gänzlich undurchscheinend ist, in zahlreichen Stellen von der Chorioidea ab; ebenfalls zahlreiche, verschieden gelegene Risse vervollständigen ihre Verunstaltung. Die Glaskörperreste ziehen als eine dem Milchhäutchen ähnliche, durchscheinende zerfetzte Membran von der Ora serrata in unregelmässigen Zügen nach dem hinteren Pol. Die Iris ist weder gequollen noch geknickt und steht zur Ebene des Limbus corneae unter einem Winkel von 35°.

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera ist 0,26—0,30 mm dick; über der Ora serrata verjüngt sie sich bis zu 0,20 mm, um dann am Skleralborde wieder bis 0,60 mm stark zu werden; sie führt tadellos erhaltene Gefässe, die an den Zenker-Schnitten viel weniger deutlich waren; ihr Gefüge ist durchaus nicht aufgelockert, wie im Konr. Zenker, weswegen auch die Gefässe nicht komprimiert sind, was dadurch zu erklären ist, dass in der Heinr. Müllerschen Flüssigkeit die Härtung schon zum grössten Teil geschehen ist, ehe man die Objekte der schrumpfenden Wirkung des Alkohols aussetzt. Die Lamina fusca ist typisch zerklüftet und bald der Sklera, bald der Chorioidea anliegend.

Die Cornea setzt sich am Skleralborde sehr präcise von der Sklera dadurch ab, dass die Sklerallamellen sich intensiver, die Cornea nur schwach mit Eosin färben; indem die Sklera am Skleralborde nur 0,6 mm dick ist, wächst die Cornea auf der Strecke von 0,3 mm Länge schon zur Dicke von 0,9 mm; ihre Bündel, im Skleralborde gleichsam zusammengehalten, strahlen nun fächerartig auseinander und sind viel welliger gestaltet, als in den zentralen Cornealpartien. Die dickste Stelle der Cornea mass 1,5 mm. Zwischen den Lamellen sieht man deutlich in den nicht seltenen Spalten die Zellen, welche ihre Kerne von dem Protoplasma differenzieren lassen — was an den mehr zusammengezogenen Konr. Zenker-Präparaten nicht der Fall war; die Fibrillen sind ausserordentlich gut zu sehen; sie verlaufen wellig und sind sehr ungleich dick. Das Cornealepithel beträgt 40—50 μ; seine oberen Schichten sind nicht so sehr abgeplattet, und seine grossen rundlichen Kerne reichen nicht selten bis zur Oberfläche; die vordere Basalmembran dagegen war so schmächtig, bzw. färberisch so verdeckt, dass ich sie überhaupt nicht als selbständigen Gewebsteil an diesen Präparaten erkennen konnte; ich sah vielmehr die Zellen der Corneallamellen sich unmittelbar an das Epithel zu rücken, was den Eindruck machte, als grenzte überhaupt das Epithel direkt an die Substantia propria corneae an. Die Membrana Descemetii anderseits setzt sich, dank ihrer intensiven Färbbar-

keit, ungemein scharf ab und ist konstant 16 μ dick; die Endothelien gut sichtbar, 2—4 μ.

Die Iris misst am Pupillarrande 0,07 mm und bleibt so dünn auf der ganzen Strecke über dem Musculus sphincter, d. h. 0,5 mm lang; dann verdickt sie sich steil, ist in der Mitte der Länge 0,41 mm, am Ansatz 0,26 mm dick. Alle Details der Struktur sind gerade so gut zu sehen, wie an allen übrigen Augenteilen, die Retina ausgenommen. Da das Bindegewebe in keiner andern Flüssigkeit so völlig von Schrumpfungen verschont war, sah ich hier am besten die scharfe Abgrenzung der schmalen, fast nur aus dem Muskel bestehenden Sphinkterpartie von der übrigen saftigen und dicken Iris.

Die Chorioidea, der Dicke ihrer grösseren Gefässe nach, bewegt sich zwischen 0,06 und 0,08 mm Dicke; manche dieser Gefässe haben einen Durchmesser von 55 μ! Die Suprachorioidea ist in ihre übereinander geschichteten Lamellen weit gespalten; auf diese Weise ist die Chorioidea von der Sklera ganz abgelöst, ohne aber ihre sphärische Form im wesentlichen zu verlieren. Die Gefässschicht enthält im reichlichen dickfaserigen Stroma mehrere Pigmentlamellen, denen der aufgefaserten Suprachorioidea vollkommen ähnlich; dadurch erscheint die ganze Gefässschicht etwa wie nur tiefer gelegene und von zahlreichen Gefässen durchsetzte Suprachorioidea. Die Choriocapillaris und die Lamina elastica lassen ihre Elemente sehr gut erkennen. Das Pigmentepithel samt der Basalmembran bleibt durchwegs an der Chorioidea haften und die von der Retina abgerissenen Stäbchen und Zapfen an ihm; alle diese Schichten zeigen dabei einen welligen Verlauf d. h. sind geschrumpft; der merkwürdige Retinariss (an 3 Bulbi unter 4 mehr weniger ausgeprägt beobachtet) erfolgte meistenteils in der Linie der Membrana limitans externa.

Die Dicke der hauptsächlichen Schichten der Retina ist: Stäbchenzapfen 25 μ; äussere Körner 35 μ; innere Körner 25 μ; Ganglienzellen 15 μ. Die Gesamtdicke der Retina würde 0,15 — 0,18 mm betragen; die retikulären Schichten und die Faserschicht sind schlecht gefärbt und dabei haben sie infolge von allgemeiner Verunstaltung der bald zerrissenen, bald geknickten Retina stark gelitten.

Diese, mit Ausnahme der Retina ausgezeichneten Resultate erlauben es, den Gebrauch der Heinr. Müllerschen Flüssigkeit in den Fällen zu empfehlen, wo es auf die Untersuchung von Sklera, Cornea und ganz besonders der Chorioidea ankommt; die Darstellbarkeit der Chorioidea übertrifft bei weitem das Beste, was ich bei allen andern Methoden gesehen. Es lehren aber die alten Erfahrungen unserer Klinik, dass die Bulbi, welche im Heinr. Müller längere Zeit — etwa 6 Monate lang — gelegen, zwar hart und ohne Gestaltsveränderungen fixiert wurden, wohl aber eine sehr mangelhafte Färbbarkeit aufwiesen. Will man also nicht nur gute Formfixierung, sondern auch gute Färbbarkeit erzielen, so muss man die Objekte nicht länger als 6—8 Wochen in der Flüssigkeit belassen.

9. Alkohol 70% (2 Bulbi).

(Inouye 31,80% Schrumpfung. v. Wasielewski und Tellyesniczky — starke Verunstaltungen des Zelleibes.)

In einem gewissen Gegensatz zu vielen Beobachtungen an andern Organen behalten die Bulbi während der ersten 24 Stunden äusserlich durchaus die sphärische Form, wohl aber sind sie regelmässig verkleinert; im Laufe der nächsten 24 Stunden schrumpfen dann die Bulbi, gleichviel ob man sie in 70%igem Alkohol belässt oder in einen konzentrierteren überträgt. Die Schrumpfung greift ungemein rasch um sich; die Faltenbildung beginnt etwas nach vorne vom Äquator — ungefähr über dem Randschlingennetze — und schreitet dann nach hinten über die ganze Sklera hinaus.

An den halbierten Augen ist die Kugelform wegen der starken, unregelmässig angeordneten talartigen Einziehungen der ganzen Wand völlig verloren; die hintere Augenwand ist derart eingezogen, dass der sagittale Durchschnitt des Auges mondsichelförmig erscheint: die sehr dünne, aber immer schön gewölbte Cornea entspricht der Konvexität, die eingefallene Sklera der Konkavität.

Die durchsichtige Retina liegt als leichter grauer Schleier der Chorioidea an; die beiden folgen unmittelbar allen Tälern und Bergen der geschrumpften Sklera.

Die Linse beteiligt sich nur sehr schwach, wenn überhaupt, an der allgemeinen Gestaltsveränderung; sie ist äquatorial 11,1 mm und sagittal 8,5 mm gross; die Linsenkapsel ist durchsichtig; die Corticalis schneeweiss, völlig undurchscheinend, nicht geschrumpft, über der ganzen vorderen flacheren Konvexität 2 mm, über der mehr vorgewölbten hinteren nur 0,5 mm dick. Der sehr grosse (8,5 mm äquat., 6,0 sagitt.), offenbar auch die Übergangsfasern mit einschliessende Kern ist hellgelb-durchscheinend und setzt sich scharf von der Corticalis ab.

Das Corpus vitreum lässt über seine Lage nichts bestimmtes sagen: bald liegt es dem Hintergrund auf, bald, seiner Schwere in den hochprozentigen Alkoholen gefolgt, befindet es sich am Boden der Hinterkammer.

Mikroskopischer Befund.

Die Lamellen der Sklera sind deutlich zusammengedrängt und sehr scharf voneinander abgegrenzt: die, von den hinzutretenden Muskelsehnen beeinflusste Dicke schwankt zwischen 0,20 und 0,25 mm.

Die Cornea ist schlecht erhalten; an den meisten Schnitten verlaufen ihre Bündel abnorm wellig, wodurch die als Saftlücken imponierenden Spalten zum noch weiteren Klaffen gebracht sind; in solchen Fällen beträgt ihre Dicke etwa 0,45 mm; an einer besseren Serie war die Cornea weniger aufgefasert, ihre Bündel liefen dicht nebeneinander und sie war nur 0,22 mm bis an den dicksten Stellen 0,30 mm dick, was auch der allgemeinen Schrumpfung mehr entspricht. Das Epithel behält zwar die Dicke von 40—45 μ, seine Zellgrenzen sind aber so schlecht färbbar, dass es mehr als ein eigen-

artiges Syncytium aussieht, nur durch Zellkerne charakterisiert. Die vordere Basalmembran ist nicht zu unterscheiden, bzw. ist sie in ihrem Aussehen den cornealen Bündeln vollkommen ähnlich; die Membrana Descemetii hingegen deutlich sichtbar, bis 16—20 μ stark und nicht selten des Endothels (3 μ) entblösst.

Die Iris ist nicht difform; sie läuft in einer langen Spitze (0,04 mm) aus; in der Mitte verdickt sie sich zu 0,30 mm, am Ansatz sich auf 0,20 mm verdünnend. Ganz eigentümlich erscheint es, wie verschieden stark verschiedene Augenteile (wie Cornea, Sklera, Iris und die nächstfolgende Chorioidea) von der Schrumpfung mitgenommen wurden.

Die Chorioidea lässt keine genaueren Schichtungen erkennen; man sieht bloss die Pigmentlage der Suprachorioidea und die des Pigmentepithels der Retina, meist als eine einzige, durch kein pigmentärmeres Gewebe getrennte Lamelle. Die Dicke der Chorioidea übertrifft 12—15 μ nicht (an den Heinr. Müller-Präparaten 60—80 μ!).

So unbefriedigend die obigen Resultate waren, so gut fiel die Methode für die Retina aus, gleichsam um jeden Schematismus fernzuhalten. Die Retina ist 0,8—1,2 mm dick; sehr gut gezeichnete Schichten messen: die Stäbchen-Zapfen 24—28 μ; die äusseren Körner 20 μ, die inneren Körner 12—16 μ; die Ganglienzellenschicht 12—15 μ. Die Absetzung der Faserschicht von der äusseren retikulären Schicht war überhaupt an keinen andern Präparaten so deutlich.

Im allgemeinen aber zeigte sich, dass der Alkohol heutzutage mit vollem Recht sehr wenig als Konservierungs- und Fixierungsmittel für das Auge gebraucht wird.

10. Alkohol 100 % (2 Bulbi).

Nach Rudnjews (13) Beobachtung ist es möglich, die kleineren Objekte gleichzeitig zu fixieren, zu entwässern und einzubetten, wenn man die frischen Objekte direkt in die äther-alkoholische Celloidinlösung legt; da es aber nicht zu erwarten war, dass so grosse Gegenstände, wie Kaninchenbulbi, einigermassen rasch von Celloidin durchtränkt würden, kamen sie bei mir zuerst auf 72 Stunden in den reinen Spiritus; auch war es von Interesse, die Wirkung von reinem C_2H_5OH auf das Gewebe zu untersuchen.

Zur sofortigen Bindung des aus den Augen diffundierenden Wassers wurden auf dem Boden der Gefässe Kupfervitriolkrystalle aufgestreut. Schon nach einigen Stunden wird die runde Wölbung der Cornea durch eine grosse randständige ringförmig verlaufende tiefe Furche entstellt; auch verkleinern sich die Bulbi deutlich, ohne jedoch, dass die Sklera zuerst grobe Falten gibt. Nach dreitägigem Verbleiben im Alkohol werden die Augen halbiert; die Härte des Gewebes reicht zum sicheren Schneiden vollkommen aus. An den Querschnitten folgt die Chorioidea der gleichmässigen Zusammenziehung der Sklera ganz genau. Die Retina hingegen hat auf die Raumbeschränkung mit Faltenbildung geantwortet, und zwar so, dass zwischen

den der Chorioidea und Sklera glatt anliegenden Partien die schmalen abgehobenen Streifen zu liegen kommen. Die Retina ist durchsichtig und nicht gequellt; auffallend durchsichtig ist die Cornea, deren Epithelien nicht durchs Wasser getrübt worden sind, wie schon in 70 % Alkohol dieses der Fall gewesen. Die Iris ist nach hinten gezogen, derart, dass sie mit der Limbusebene nur einen verhältnismässig kleinen Winkel bildet.

Die Linse ist stark verkleinert; ihre mittleren Masse sind — äquat. 9,0, sagitt. 6,3 mm. Die Linsenkapsel ist als eine glänzende Membran erhalten, aber nicht abziehbar; die Corticalis ist typischerweise vorne etwa nochmals so dick, wie hinten; Grund- und Kernsubstanz konfluieren undifferenzierbar zusammen. Der Glaskörper hat sich zu einem spiralig um seine Achse gewundenen schmalen Klümpchen zusammengezogen.

Zur Durchtränkung der halbierten Bulbi wurde das Celloidin in üblichen drei Verdünnungen genommen (— gesättigt, zur Hälfte und zum Viertel verdünnt). In jeder Lösung verblieben die Bulbi je drei Tage lang.

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera hat, wie auch in den meisten andern Flüssigkeiten, am wenigsten gelitten. Sie ist 0,20 — 0,25 mm dick und ohne Abweichungen von der Norm in ihrer Struktur; die Cornea dagegen, die überhaupt unter allen Bulbusteilen am leichtesten quillt, bzw. schrumpft, ist nicht über 0,14 mm dick (0,35 — 0,40 mm beim Konr. Zenker, etwa 1,0 mm beim Heinr. Müller) und sind ihre Lamellen so dicht zusammengedrängt, dass man ihre Grenzen kaum erkennen kann. Am Epithel fällt es auf, dass die untere Cylinderepithelienschicht sehr dunkel ist, die oberen platten Reihen dagegen ganz blass — das Verhalten, welches man an der äusseren Körperhaut beobachtet. Die Membrana Descemetii misst 4—6 μ (Konr. Zenker 10 μ, Heinr. Müller 16 μ); das Endothel ist nicht zu sehen.

Die Iris ist wenig verunstaltet. Ihr Stroma erscheint kaum saftärmer und geschrumpfter als sonst; am Ansatz misst sie 0,20 mm, in der Mitte der Länge 0,38.

Die Chorioidea ist ungefähr 0,03 mm dick und lässt sogar leidlich ihre Struktur erkennen, ist aber samt der Retina fast durchgehends von der Sklera abgerissen.

Die Retina hat weniger gelitten; sie bleibt 0,08 — 0,11 mm dick; und wenn man auch auf grösseren Strecken die Faserschicht und die äussere retikuläre Schicht derart verdünnt und zusammengeschrumpft findet, dass die Stäbchen-Zapfen und die äusseren Körner unmittelbar aneinanderstossen, — so ist an andern Stellen und Schnitten dagegen alles aufs genaueste differenziert, und misst man: die Stäbchen-Zapfen 28, die äusseren Körner 24, die inneren Körner 16 und die Ganglienzellenschicht 12 μ.

Über die reine gestaltsverändernde Alkoholwirkung kann man also sagen, dass eigentlich nur das hyalingestaltete und das epitheliale Gewebe stark und namentlich im Sinne der Schrumpfung leidet; das erstere ist vielleicht von collagener Natur; das letztere trägt in seinen prallen tieferen Zellen zu viel Wasser.

11. 10%ige Formaldehydlösung (4 Bulbi).

(Inouye 7,44% Schrumpfung.)

Bekanntlich war und ist vielfach noch das Formol das gebrauchteste Mittel zur Konservierung auch von ophthalmologischen Präparaten. Indes ist seine Anwendung nur in ganz bestimmten Fällen ratsam. So bemerkt z. B. C. Hess (14), dass die Formolkonservierung am menschlichen Auge deswegen von Bedeutung ist, weil sie eine rasche und ziemlich sichere Fixierung mancher physiologischer Zustände ermöglicht.

An den Kaninchenaugen war folgendes zu beobachten: nach 18 Stunden sind die Bulbi schon soweit gehärtet, dass nach dem Halbieren ihre Hälften nicht in sich zusammenfallen; die Linsen sind nur am Äquator andeutungsweise getrübt, in der Mitte noch absolut durchsichtig, wohl aber schon so fest, dass man beliebige Schnitte führen kann, ohne die Linse zu zerdrücken. Nach 48 Stunden ist die Linse schon ziemlich trüb, merklich verkleinert; an den Bulbi selbst beginnt schon Schrumpfung. Auch in Alkohol übertragen schrumpften und trübten sich die Augenteile unverzüglich. Also nur für kürzere Zeit zu untersuchende Objekte taugt die Formolbehandlung, — und in solchen Fällen leistet sie vorzügliches.

Bei den regelrechten Versuchen zeigten die Bulbi, welche 24 Stunden im Formol belassen wurden, keine äusseren Gestaltsveränderungen; dagegen schon in 50%igem Alkohol flacht sich der sklerale Teil ab, die Optikuseintrittsstelle zieht sich sogar etwas ein; in 80%igem Alkohol bekommt auch die Cornea Falten, welche aber dann in dünnem Celloidin wieder verstreichen. Es zeichnet sich dabei die Cornea durch einen sehr hohen Grad von Durchsichtigkeit aus. Die Iris ist auch hier nicht sehr geschrumpft.

Die Chorioidea liegt der Sklera an; die Retina bleibt nur an der Ora serrata im vollen Umkreise befestigt; gegen den Äquator zu ist sie von der Chorioidea wellig abgehoben und bis auf 3 mm weit entfernt; an einem Bulbus ging die Verunstaltung so weit, dass die ganze zusammengeballte Retina mit dem Corpus vitreum zusammen als ein unförmlicher gallertartiger graulicher Klumpen der Ora serrata anlag; diese hohen Grade der Schrumpfung machen es wahrscheinlich, dass die nervösen Elemente der Retina sich im Formol in viel geringerem Masse verkleinern, als das Collagen der Sklera und die elastischen Fasern der Chorioidea, —. und durch diese Ungleichmässigkeit kommt es zu den Zerreissungen, Aufrollungen usw.

Die Linse ist stark und in allen Durchmessern regelmässig verkleinert, in toto hart und hellgelb durchscheinend; die Kapsel ist ohne weiteres nicht sichtbar. Die Corticalis ist bis auf 0,5 mm verdünnt, vorne und hinten gleich dick, nur am Äquator etwa 1,0 mm stark. Die Grundfasern bilden ebenfalls eine überall millimeterdicke Schicht, erscheinen weisslich und lassen ihre Faseranordnung ungefähr erkennen; der Kern ist sehr wenig geschrumpft,

wodurch es sich ein übriges Mal ergibt, wie verschieden die Widerstandsfähigkeit von verschiedenen Lagen der Linsenfasern den Konservierungsflüssigkeiten gegenüber ist.

Mikroskopischer Befund.

Die Sklera besteht aus ziemlich aufgefaserten, zugleich aber für sich geschrumpften Bündeln; da jede Quellung ausgeblieben ist, stellen sich ihre Zellen sehr deutlich als grosse, bis 12 μ lange, 4 μ dicke Gebilde dar, indem sie in Heinr. Müller nur ungefähr $6 \times 3\ \mu$ messen. Die Dicke der Sklera ist nur 0,15—0,17 mm.

Die Bündel der Cornea liegen sehr zusammengedrängt. Die Bündelgrenzen sind ziemlich verwaschen; die Cornea ist 0,17 mm dick; das Epithel nicht über 20 μ schlecht; die Membrana Descemetii nur 8 μ, das Endothel 4 μ, gut.

Die Iris zeigt sehr genau und gross ihre Bindegewebszellen. Ihr fibrilläres Stroma dagegen erscheint verwaschen; sie ist am Ansatz etwa 0,20, in der Mitte 0,27 mm dick.

Die Chorioidea ist weitgehend geschrumpft, lässt nur die grösseren Gefässe unterscheiden und bewegt sich zwischen 30—50 μ Dicke.

Retinazeichnung ist an den wenigen gut erhaltenen Stellen sehr deutlich. Die Dicke der Retina beträgt 0,08—0,10 mm; die einzelnen Schichten: Stäbchen-Zapfen 22 μ, die äusseren Körner 26, die inneren 15, die Ganglienzellen bis 18—20 μ.

12. Formolgefrierverfahren (2 Bulbi).

Oft wird das Formol als Vorfixierungsmittel beim Gefrierverfahren gebraucht; seine Wirkung im Laufe von ersten 18—24 Stunden macht es in der Tat auch für ophthalmologische Zwecke sehr brauchbar, insbesondere weil jetzige Gefriermikrotome nur für Objekte gebaut sind, die nicht über 5 mm in jeder Dimension lang sind, und also das Zerteilen der Bulbi erfordern. Die also vorgehärteten Bulbi wurden in toto an der Kühlplatte des Kohlensäure-Mikrotoms angefroren; dann wurde die obere Hälfte vorsichtig mit dem Rasiermesser abgetragen.

Mikroskopischer Befund.

Die Schnitte wurden kurz mit Alaunkarmin bzw. Hämatoxylin gefärbt und in Eiweiss eingeschlossen. An beiden so untersuchten Augen fiel es vor allem auf, wie breit und geräumig die „Saftlücken" der Cornea sich präsentierten — 40 μ lang und von 4—12—15 μ breit; in ihnen lagen zum Teil die typischen Propriazellen, jedoch viel grösser als an andern Präparaten (bis 4 μ dick in ihrem kernhaltigen dunklen Teile); zum Teil waren sie durch körnige grosse Gebilde von unbestimmter Natur ausgefüllt. Ob diese Vergrösserung der Lücken ein reines Macerationsprodukt ist, kann ich nicht entscheiden, aber auch an den Alkoholpräparaten war ähnliches schwach angedeutet. Die Cornea war 0,65 mm dick; ihr Epithel verwaschen, 20 μ;

die vordere Basalmembran unsichtbar; die Membrana Descemetii (8 μ) und das Endothel dagegen sehr gut zu sehen.

Die Chorioidea (32—48 μ) erlaubt nur ihr Pigmentgewebe und die Gefässe zu differenzieren; sonst sehen ihre bindegewebigen Teile verblasst und undeutlich gezeichnet.

Die Retina riss entweder beim Schneiden oder beim Auftauen der Schnitte regelmässig ab und war also im Zusammenhang nicht zu untersuchen. Deswegen wurden von jeder der 4 zur Untersuchung gekommenen Augenhälften kleine Retinastückchen herauspräpariert; weiter wurde auf der Kühlplatte durch Auftropfen der physiologischen Kochsalzlösung ein höheres Hügelchen gefroren, und auf seine Seiten kamen dann die Retinastückchen zu liegen. Die Dicke der Retina erwies sich als sehr gross — 0,16—0,20 bis 0,25 mm (Heinr. Müller 0,15—0,18 mm). Wie die Zellkerne, so auch die Zellgrenzen sind dabei, wie es scheint, viel schöner und deutlicher gefärbt. Die retikulären und faserigen Elemente sind glasig, heben sich von der Umgebung nicht so scharf ab — wahrscheinlich weil sie nicht geschrumpft sind, wenigstens nicht so weitgehend, als das nach Berührung mit Alkohol der Fall ist. Die Dicke der Schichten: die Stäbchen-Zapfen 50 μ, die äusseren Körner 65, die inneren 30, die Ganglienzellen 25 μ. Die Zellkerne der beiden Körnerschichten sind nicht so zusammengedrängt, wie bei andern Methoden, und lassen deswegen zwischen sich doch nicht so spärliches Bindegewebe vermuten.

12a. Gefrierschnitte von lebensfrischen Augen (4 Bulbi).

Es war noch von theoretischem Interesse, Schnitte herzustellen, welche weder mit Formol, noch mit andern Fixierungsflüssigkeiten in Berührung gekommen. Die einzige Schwierigkeit lag in der Zerkleinerung der nicht vorbehandelten Augen. Es war an zwei Verfahren zu denken: eine rasch einwirkende Kältemischung anzuwenden, oder zu versuchen, doch das ganze Auge anzufrieren.

Als Kältemischung wurde *NaCl* im Schnee genommen; die in Seidenpapier eingewickelten zwei Bulbi waren in der Tat unerwartet rasch — schon nach 5 Minuten — fest genug, um wenigstens ohne gröbere Verzerrungen geschnitten zu werden; es ist kaum anzunehmen, dass binnen so kurzer Zeit das *NaCl* schon auf die Gewebe einigermassen tiefgehend eingewirkt haben könnte, zumal die niedrige Temperatur der Mischung (bekanntlich unter —20° C.) das Zustandekommen der chemischen Reaktion erschwert. Die Schnitte wurden in physiologischer Lösung aufgefangen; und dann mit wässrigem Hämatoxylin-Eosin oder, um Prozedur an den feinen Objekten abzukürzen, mit Alaunkarmin allein gefärbt.

Die Cornea misst 1,0—1,2 mm — den Massen im Heinr. Müller am nächsten. Das Epithel ist 60—80 μ dick (im Konr. Zenker bloss 40 μ), aber von so verwaschener Zeichnung, dass man die Zellgrenzen nicht oder kaum

sieht. Die Membrana Descemetii ist 12 μ dick und deutlich gesondert. Das Endothel ist im mikroskopischen Bilde spurlos verschwunden. Die einzelnen Fibrillen in den cornealen Bündeln sind nicht zu unterscheiden; die Zellen zeichnen sich durch ihre Länge — bis 40 μ — aus; die bei den Formolgefrierpräparaten beschriebenen Lücken aber fehlen an diesen etwa $^1/_2$ Stunde nach der Enucleation schon untersuchten Pröparaten völlig und stellen sich somit aus als ungemein rasch aufgetretene Macerationsprodukte (wie ja die Cornea in den meisten Flüssigkeiten sich fast augenblicklich schon verändert). Die einzelnen Bündel verlaufen ziemlich geradlinig; es ist deswegen anzunehmen, dass ihr welliger Verlauf, oben mehrmals beschrieben, auch ein Kunstprodukt ist.

Die Dicke der unversehrten Sklera ist 0,9 mm. Die durch nichts fixierten Iriszapfen der Schnitte schlugen sich beim Präparieren so oft um sich und wurden dann beim Ausbreiten mit der Nadel so zerzupft und verzogen, dass sie keinen einigermassen sicheren Befund mehr ermöglichten. Dasselbe war übrigens auch bei den Formol-Gefrierschnitten der Fall.

Die Chorioidea erschien sehr mächtig — etwa 0,12 mm dick —, aber ganz verwaschen, was ebenfalls die sehr rasche Auflockerung durch Maceration vermuten lässt, gegen welche die Schnitte durch keine Vorbehandlung geschützt worden sind. Es erfordern überhaupt diese Schnitte die grösste Vorsichtigkeit; manches, was für das üblich gehärtete Präparat ohne Bedeutung ist, kann solchen Gefrierschnitt und mit ihm viele Mühe vernichten.

Die Retina war nur herauspräpariert zu bekommen; ihre mittlere Dicke beträgt 0,18 mm; ihre Zeichnung ist äusserst undeutlich.

Die weiteren 2 Bulbi wurden wie gesagt in toto angefroren; dann wurde die obere noch weiche Hälfte mit dem Rasiermesser abgetragen; die Schnitte von diesen Augen zerfielen aber beim Auftauen in der physiologischen Kochsalzlösung in kleinere Stücke; die Cornea ist stärkst macceriert, die Retinabröckel sind sehr schwer zu finden und erlauben keine Orientierung; Sklera-Chorioideastreifen rollen sich mehrmals auf, reissen ab; entweder ist die Zusammenfügung der Gewebe nicht fest genug, um die Erhaltung der ursprünglichen Verhältnisse auch in den mikroskopischen Schnitten zu gewähren, oder ist die Kochsalzlösung diesen Schnitten gegenüber durchaus nicht indifferent [wie das auch Kaiserling und Germer (2) bei ihren Untersuchungen an den freien Zellen gefunden].

Die Schwierigkeiten, mit welchen die Herstellung von solchen, weder mit Formol noch mit Alkohol behandelten Präparaten, verknüpft ist, die schlechte Färbbarkeit, die Unsicherheit der Resultate — erlauben nicht diese Methode eine für die Mikroskopie der Augenhäute besonders brauchbare zu nennen, obwohl auch sie ihre speziellen Anwendungsgebiete besitzt, vor allem bei den Messungen an den Linsen [v. Pflugk (15)].

Schlüsse.

Zusammengefasst, ergeben sich aus unsern Untersuchungen folgende Schlüsse.

Die Linse, welche eine hohe Empfindlichkeit gegen die Konzentrationsunterschiede der Salze in den angewandten Flüssigkeiten besitzt (Hamburger III, 166), zeigte bedeutende Grössenschwankungen. Ihr sagittaler Durchmesser ist nach Formolfixierung gleich 6,1 mm, nach der Müllerschen Flüssigkeit 9,1; das äquatoriale Minimalmass ist 9,0 im 100%igen Alkohol, das Maximum ist 11,5 in Sublimatwasser und 3g Sublimat-Alkohol; es sind dabei wie die maximalen, so auch die minimalen Werte nicht mehr der Natur entsprechend. Die normale Linsengrösse, nach den Formolgefrierpräparaten beurteilt, möchte etwa 8,0 mm sagittal und 11,2 äquatorial betragen. Das Verhalten der einzelnen Linsenschichten war für jede Flüssigkeit durchaus konstant. Alkohol bringt die Corticalis zur Quellung und macht sie undurchsichtig. Der Kern bleibt in allen Flüssigkeiten zum mindesten durchscheinend. Die Veränderungen der Beschaffenheit der Grundsubstanz weichen in verschiedenen Flüssigkeiten voneinander bedeutend ab: bald ist die Grundsubstanz mächtig und bald auf eine zarte Lamelle reduziert. Auffallend konstant ist die eigentümliche Zeichnung der braun- und weissgefleckten Linse in Zenkerscher Flüssigkeit.

Die Sklera verhält sich gegen die verschiedenen Flüssigkeiten ziemlich indifferent und leidet wenig auch in den aktivsten Lösungen, wo die andern Teile stark verunstaltet werden. Die Cornea ist im hohen Masse empfindlich: in Heinr. Müllerscher Flüssigkeit schwillt sie bis 1,5 mm, in 100%igem Alkohol misst sie nur 0,14 mm, indem bei der schonendsten Gefriermethode ihre Dicke 1,0—1,2 mm erreicht. Auch die Art, wie ihre Bündel verlaufen, ändert sich je nach dem Fixierungsmittel: geradlinig (in den meisten Fällen), wellig (Konr. Zenker, Heinr. Müller, Sublimat-Alkohole), oder überhaupt in Unordnung und wie aufgewühlt (Gefrierverfahren). Die durchgehende Dicke des Cornealepithels ist 40 μ, nur im Formol und absoluten Alkohol misst es 20 μ. Die Bowmansche Membran fällt nur im Konr. Zenker, Sublimatwasser und 3g-Sublimat-Alkohol gut aus und misst dann 6 μ Dicke. Die Membrana Descemetii hat nur im 6g-Sublimat-Alkohol und in $1^1/_2$% Rohrzuckerlösung gelitten, sonst ist sie gut darstellbar und 12—14—16 μ dick. Das Endothel lässt sich in 100% Alkohol und beim Gefrieren nicht darstellen; an andern Präparaten bewegen sich seine Masse zwischen 2—3—4—5 μ.

Die vorgenommenen Messungen an der Iris können keinen besonderen Wert haben; zwar zeigten bei der Enucleation alle Tiere weitgehende Chloroform-Mydriasis, sie bildete sich aber im weiteren Verlaufe zurück, und namentlich in sehr ungleichem Grade an ver-

schiedenen Augen. Pilokarpin- oder Atropin-Einträufelungen vor der Enucleation, wie ich davon leider erst nach dem Abschluss der Versuche bei Hess (14) gelesen habe, waren nicht angewendet. Der dickste Teil, etwa in der Mittelentfernung zwischen dem Pupillarrande und dem Irisansatz, gab noch ziemlich konstantes Mass, um 0,35 mm; die Dicke des Ansatzes schwankte zwischen 0,13 (Sublimat-Rohrzucker $1^1/_2\%$) und 0,35 mm (Konr. Zenker). Solche Differenzen sind selbstverständlich, ausser von der Schrumpfung, auch von der individuellen Gefässanordnung im Stroma abhängig, so dass eine präcisere kritische Verallgemeinerung hier ganz unmöglich ist. Der pupillare Rand ist 30—40—50—70 μ dick, je nachdem, wie weit die Mydriasis zurückging.

Die Dicke der Chorioidea liegt um 50 μ. Die Heinr. Müllersche, Konr. Zenkersche und H. Stoelznersche ($4^1/_2\%$ Rohrzucker-Sublimat) Flüssigkeiten geben die besten Strukturbilder; aber auch die meisten andern Lösungen sind für die Chorioidea gut brauchbar; $1^1/_2\%$ Rohrzucker-Sublimat (Inouye) liefert dagegen sehr schlechte Präparate (obwohl nur um 3% Rohrzucker von der vorzüglichen H. Stoelznerschen Lösung verschieden); desgleichen auch Alkohol 70%; dieser wirkt viel mehr verunstaltend, als der 100%ige, wahrscheinlich deswegen, weil die Reaktion zwischen dem C_2H_5OH und dem Eiweisse wegen des Fehlens des H_2O im absoluten Spiritus nicht so stürmisch verläuft und das Gewebe Zeit hat, allmählich zu erhärten.

Die Retina kann wohl in bezug auf die Formkonservierung die anspruchsloseste Augenhaut genannt werden; nur auf den Gefrierschnitten der frischgefrorenen Augen hielt sie dem Auftauen und der physiologischen Kochsalzlösung nicht stand, quoll auf und zerfiel; sodann bekam sie an manchen Stellen der Heinr. Müllerschen Präparate den Riss, welcher die äusseren Glieder der Stäbchen-Zapfen von den inneren oder die ganze Stäbchen- und Zapfenschicht von der übrigen Retina trennte. Alle andern 9 Versuchsreihen gaben sehr gute Resultate, die besten — Sublimat-Wasser, die Stoelznersche Lösung und K. Zenker beim W. Stockschen Verfahren. Im K. Zenker für sich liessen sich die feineren strukturellen Einzelheiten, wie retikuläre Fasern usw., nicht so deutlich auseinander halten. Die Dicke der Retina ist 0,13—0,15 mm, an Formolgefrierschnitten 0,20 mm; welcher Wert dem Leben näher liegt, erhellt sich leider aus diesen Versuchen nicht. Die mittlere Dicke der Stäbchen-Zapfen ist 35 μ, der äusseren Körner 25 μ, der inneren 15 μ und der Ganglienzellenschicht ebenfalls 15 μ. An den Formolgefrierschnitten waren alle Masse grösser: Die Stäbchen-Zapfen 50 μ, die äusseren Körner 65 μ, die inneren Körner 30 μ, die

Ganglienzellenschicht 25 μ: an den regelrechten Formolpräparaten war die letzte Schicht 18 μ dick.

Was die Färbbarkeit anbelangt, so wurde die beste von der Heinr. Müllerschen Flüssigkeit gegeben, wenn die Fixation nicht allzulang gedauert (Präparate von 6 Wochen). Dann kommen die sublimathaltigen Konr. Zenkersche, Stoelznersche und Inouyesche Flüssigkeiten; auch die Sublimat-Alkohole stehen wenig nach. Bei der monatelangen Einwirkung beeinträchtigt die Heinr. Müllersche Flüssigkeit die Färbbarkeit ganz bedeutend. Für die Retina gibt das Sublimat-Wasser besonders gute Resultate. Bei der Stockschen intraokularen Injektion von Zenker wurde kein erheblicher Unterschied gegen Konr. Zenker überhaupt beobachtet. Berücksichtige ich die Form von Konservierung und die Färbbarkeit zusammen, so ergibt sich, dass die Gestaltsalterationen im Heinr. Müller, Inouye und Sublimatalkoholen in vieler Hinsicht die Vorteile der guten Färbbarkeit illusorisch machen, — dass die Resultate im Konr. Zenker schon besser sind und dass erst die H. Stoelznersche Flüssigkeit das günstigste Verhältnis jener beiden Faktoren bietet — im Gegensatz zu Inouyes Resultaten, welcher die $1^1/_2$%ige mit Sublimat gesättigte Rohrzuckerlösung der $4^1/_2$%igen Hel. Stoelznerschen überlegen fand.

Umstehende Tabelle gibt kurze Übersicht über alles Mitgeteilte.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. XV, Fig. 1—4.

Fig. 1. Das Präparat gibt eine Sklera-Chorioidea-Retina-Partie bei Fixation im Konr. Zenker wieder. Die Retina ist gut erhalten, aber von der Chorioidea abgelöst; das Pigmentepithel heftet an der letzteren. Ein Chorioidealgefäss ist als eine lange, mit Blutkörperchen ausgefüllte Lücke zu sehen. Die Suprachorioidea liegt als zwei Lamellen unmittelbar der Aderhaut an; die zwei – drei weiteren Lamellen bleiben im Zwischenraum zwischen der Ader- und Lederhaut, und endlich eine bzw. zwei liegen der Sklera als echte Lamina fusca an. 250fache Vergrösserung.

Fig. 2. Korrespondierende Stelle aus einem Heinr. Müller-Präparat; dieselbe Vergrösserung. Das Hauptinteresse bietet die Chorioidea; auch an der dunklen Aufnahme sind ihre Kapillaren an ein paar Stellen als helle Fleckchen sichtbar; die meisten waren mit Erythrocyten erfüllt, welche sich mit Eosin intensiv rot färbten und auf der Platte dunkel ausfielen. Die Retina zeigt ihren Riss: die Stäbchen- und Zapfenschicht ist zwar mehrfach gefältelt, aber fest mit der Chorioidea zusammengefügt, — und die übrige Retina, welche sehr undeutliche Verhältnisse bot, weiter oder näher von der Augenwand abgelöst. Die Suprachorioidea wie im vorigen Präparat.

Fig. 3. Korrespondierende Stelle aus einem Hel. Stoelzner-Präparat (gesättigt. Sublimat in $4^1/_2$%igem Rohrzucker); dieselbe Vergrösserung. Alle Augenhäute liegen einander an. Die Kapillaren der Chorioidea sind an der Photographie leider verschattet, die grossen Gefässe ohne weiteres sichtbar. Die Suprachorioidea und die Lamina fusca sclerae geben in der Tat ein einheitliches Gebilde ab.

Methode	Konr. Zenker	Gesättigte Sublimatlösung in Wasser	Gesätt. Sublimatlös. in 1½%iger Rohrzuckerlös. in Wasser
Äusseres Verhalten	Unverändert	Schrumpfung bei der Entwässerung	Angedeutete Schrumpfungen
Linsenmasse äquator.	10,75 mm	11,5 mm	10,1 mm
Linsenmasse sagitt.	7,5 mm	7,1 mm	7,3 mm
Sklera	0,13 mm bis 0,25 mm	0,15—0,20 mm	um 0,40 mm
Cornea	gut 0,3 bis 0,35 mm	gut 0,25 mm	gut 0,25—0,30 mm
Epithel	gut 40—50 μ	gut 36 μ	schlecht 24—28 μ
Bowmansche M.	sehr gut 6 μ	6 μ	schlecht 5—6 μ
M. Descemetii	sehr gut 10 μ	12—20 μ	6 μ
Endothel	deutlich 4—5 μ	3—4 μ	4 μ
Irisansatz	0,35 mm	0,30 mm	0,13 mm
Irismitte	0,38 mm	0,33 mm	0,35 mm
Pupillarrand	0,35 mm	0,06 mm	0,07 mm
Chorioidea	50 μ	45 μ	20—50 μ
Gefässschicht	28 μ		
Retina	0,13 mm	sehr gut 0,15 mm	0,1—0,14 mm
Stäbchen-Zapfen	30 μ	32—40 μ	28—40 μ
Äussere Körner	20 μ	28 μ	20—24 μ
Innere Körner	15 μ	15 μ	13 μ
Ganglienzellen	12—20 μ	12—20 μ	15 μ

Methode	Alkohol 70%	Alkohol 100%	Formol
Äusseres Verhalten	Starke Schrumpfung	Stärkste Schrumpfg.	Bei der Entwässerung starke Schrumpfung
Linsenmasse äquator.	11,1 mm	9,0 mm	9,5 mm
Linsenmasse sagitt.	8,5 mm	6,3 mm	6,1 mm
Sklera	um 0,20 mm	0,15—0,17 mm	0,15—0,17 mm
Cornea	0,22-0,30 mm aufgelockert	0,14 mm	0,17 mm
Epithel	40—45 μ	20 μ	20 μ
Bowmansche M.			
M. Descemetii	sehr gut 12—14 μ	4—6 μ	8 μ
Endothel	3 μ		auffallend gut 4 μ
Irisansatz	0,20 mm	0,20 mm	0,20 mm
Irismitte	0,30 mm	0,38 mm	0,37 mm
Pupillarrand	0,04 mm		
Chorioidea	12—15 μ	30 μ	30—50 μ
Gefässschicht			
Retina	0,8—0,12 mm	0,08—0,11 mm	0,08—0,10 mm
Stäbchen-Zapfen	24—28 μ	28 μ	22 μ
Äussere Körner	20 μ	24 μ	26 μ
Innere Körner	12—16 μ	16 μ	15 μ
Ganglienzellen	12—15 μ	12 μ	18 μ

Gesätt. Sublimatlös. in $4^1/_2$ %iger Rohrzuckerlös. in Wasser	3%ige Sublimatlös. in 50%igem Alkohol	6%ige Sublimatlös. in 50%igem Alkohol	Heinr. Müller
Unverändert	Unbedeutende Schrumpfungen	Unverändert	Unverändert
11,2 mm	11,5 mm	11,1 mm	11,0 mm
7,7 mm	7,1 mm	7,4 mm	9,1 mm
0,30 mm	0,15—0,20 mm	0,1—0,12 mm	0,26—0,30 mm
0,28 mm	0,25—0,35 mm	0,32—0,35 mm	sehr gut 0,9—1,5 mm
28—40 μ	30—44 μ	48—52 μ	40—45 μ
undifferenzierbar	6 μ	sehr schlecht	undifferenzierbar
gut12—14—16 μ!	6—8 μ	4 μ	gut 16 μ
4 μ	3—4 μ	3 μ	gut 2—4 μ
0,30 mm	0,15 mm		0,26 mm
0,37 mm	0,33 mm	0,20 mm	0,41 mm
0,076 mm		0,04 mm	0,07 mm
sehr gut 60—70 μ	geschrumpft 16—18 μ	40—48 μ	sehr gut 60—80 μ
40 μ			bis 55 μ
sehr gut 0,1—0,15mm	0,08 mm	0,11 mm	schlecht 0,15-0,18 μ
20—32 μ	14—24 μ	20—28 μ	25 μ
18—28 μ	18—20 μ	24—30 μ	35 μ
15 μ	10—12 μ	15 μ	25 μ
8 μ	8 μ	8—12 μ	15 μ

Formol-Gefriermethode	Reine Gefriermethode	K. Zenker nach W. Stock	Gesätt. Sublimatlös. in $1^1/_2$ %iger Rohrzuckerl. n. W. Stock
		Unverändert	Unverändert
11,2 mm		10,2 mm	10,5 mm
7,9 mm		7,6 mm	7,3 mm
		0,13—0,25 mm	0,20—0,30 mm
0,65 mm		0,30—0,34 mm	0,25—0,32 mm
schlecht 32—40 μ	60—80 μ	32 μ	28—30 μ
		4—8 μ	6—8 μ
8 μ	12 μ	8—10 μ	6—7 μ
sehr gut 4 μ		2—3 μ	4—5 μ
0,20 mm		0,25 mm	0,35 mm
0,27 mm		0,45 mm	0,45 mm
		0,05 mm	0,24 mm
32—48 μ		36—45 μ	40—50 μ
	sehr schlecht	16 μ	bis 28 μ
0,20 mm		0,12—0,13 mm	0,1—0,14 mm
50 μ		30 μ	24—28 μ
65 μ	sehr schlecht	26—30 μ	24—28 μ
30 μ		15 μ	8—10 μ
25 μ		16 μ	12 μ

Die äusseren Glieder der Stäbchen und Zapfen, welche nicht senkrecht, sondern unter einem Winkel zur Bulbuswandung stehen, sind quer oder schief getroffen und daher körnig aussehend. Die mit Eosin intensiv färbbaren Innenglieder sind jedes für sich differenzierbar. Die äusseren Körner sind wie in drei Reihen geordnet.

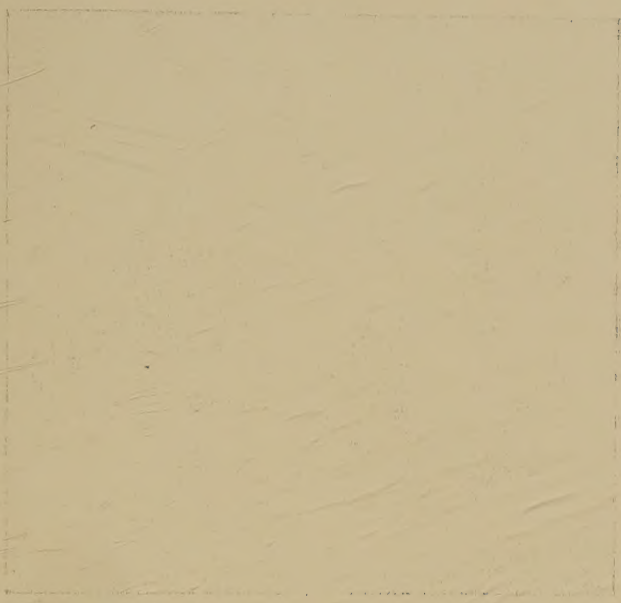
Fig. 4. Halbierte Linsen von ungefähr gleichgrossen Tieren; die betreffenden Bulbi sind fixiert mit:

1. K. Zenker,
2. Alkohol 70%,
3. u. 4. Formol,
5. H. Müller,
6. Sublimat-Wasser gesättigt,
7. Sublimat, in $4^1/_2$%igem Rohrzucker gesättigt (Stoelzner),
8. 3% Sublimat in 50%igem Alkohol.

Natürliche Grösse.

Literaturverzeichnis.

1) Inouye, Kikuji, Über die Volumensveränderung des Bulbus bei der Härtung in verschiedenen Härtungsflüssigkeiten und bei der Entwässerung in Alkohol. Diss. München 1908.
2) Kaiserling u. Germer, Über den Einfluss der gebräuchlichen Konservierungs- und Fixationsmethoden auf die Grössenverhältnisse tierischer Zellen. Virchows Arch. Bd. CXXXIII. 1893.
3) Fischer, A., Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Kritische Untersuchungen über Technik und Theorie in der neueren Zellforschung. Jena 1899.
4) Tellyesniczky, K., Über die Fixierungs-(Härtungs-)Flüssigkeiten. Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. LII. 1898.
5) v. Wasielewski, W., Über Fixierungsflüssigkeiten in der botanischen Mikrotechnik. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVI, 3. 1899.
6) Rubenthaler, G., Méthode générale de fixation, ayant pour le but de restreindre les artefacts. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XXIV, 2. 1907.
7) Stock, W., Über kavernöse Sehnervenatrophie bei Myopie. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd XLVI. S. 342. 1908.
8) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Bd. III benutzt. Wiesbaden 1904.
9) Stoelzner, Helene, Der Einfluss der Fixierung auf das Volumen der Organe. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XXIII, 1. 1906.
10) Mercier, Die Zenkersche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. Ebenda Bd. XI, 4. 1894.
11) Pirone, R., Note sur l'emploi du jode après la fixation en sublimé ou en liquides qui en contiennent. Ebenda Bd. XXI, 2. 1904.
12) Sehrwald, E., Der Einfluss der Härtung auf die Grösse der Gehirnzellen und auf die Gestalt der Golgischen Bilder. Ebenda Bd. VI, 6. 1889.
13) Rudnjew, W., Über gleichzeitiges Fixieren, Entwässern und nachfolgendes Einbetten der histologischen Objekte in einer Äther-Alkoholischen Celloidinlösung. Ebenda Bd. XXIV, 3. 1907.
14) Hess, C., Accommodative Änderungen im Menschenauge. Arch. f. Augenheilk. Bd. LXV, 2. 1910.
15) v. Pflugk, A., Die Fixierung der Wirbeltierlinsen, insbesondere der Linse des neugeborenen Menschen. Klin. Monatsbl. f. Ophth. Juli 1909.

Curriculum vitae.

Alexander Petrowicz Prokopenko, griechisch-katholischer Konfession, als Sohn des Okulisten Peter P. Prokopenko in Charkow (Südrussland) am 19. Mai 1886 geboren, besuchte seit 1896 und absolvierte im Jahre 1904 das III. Charkower klassische Gymnasium und wurde im Herbst 1904 als stud. phil. an der Universität Charkow und im Herbst 1905 als stud. med. in Heidelberg immatrikuliert; die ersten 5 medizinischen Semester brachte er in Heidelberg, die 5 klinischen vom Sommersemester 1908 an in München zu.